

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成27年1月8日(2015.1.8)

【公開番号】特開2014-218520(P2014-218520A)

【公開日】平成26年11月20日(2014.11.20)

【年通号数】公開・登録公報2014-064

【出願番号】特願2014-165961(P2014-165961)

【国際特許分類】

A 6 1 K	9/127	(2006.01)
A 6 1 K	47/24	(2006.01)
A 6 1 K	47/08	(2006.01)
A 6 1 K	47/12	(2006.01)
A 6 1 K	47/14	(2006.01)
A 6 1 K	47/16	(2006.01)
A 6 1 K	47/18	(2006.01)
A 6 1 K	47/22	(2006.01)
A 6 1 K	47/28	(2006.01)

【F I】

A 6 1 K	9/127
A 6 1 K	47/24
A 6 1 K	47/08
A 6 1 K	47/12
A 6 1 K	47/14
A 6 1 K	47/16
A 6 1 K	47/18
A 6 1 K	47/22
A 6 1 K	47/28

【手続補正書】

【提出日】平成26年10月16日(2014.10.16)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

両性リポソームであって、少なくとも1種の正電荷担体と、該正電荷担体と異なる少なくとも1種の負電荷担体とを含み、等電点が4～8であり、かつホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、コレステロール、テトラエーテル脂質、セラミド、スフィゴ脂質及び／又はジアシルグルセロールからなる群より選ばれた中性脂質を含むことを特徴とする両性リポソーム。

【請求項2】

等電点が5～7である、請求項1記載の両性リポソーム。

【請求項3】

両性リポソームであって、少なくとも1種の両性電荷担体を含み、該両性電荷担体が、等電点が4～8を有する両性リポソームであって、前記両性リポソームが、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、コレステロール、テトラエーテル脂質、セラミド、スフィゴ脂質及び／又はジアシルグルセロールからなる群より選ばれた中性脂質

を含むことを特徴とする両性リポソーム。

**【請求項 4】**

該両性荷電担体の等電点が、5～7である、請求項3に記載の両性リポソーム。

**【請求項 5】**

両性リポソームであって、等電点が4～8である少なくとも1種の両性電荷担体と、陰イオン及び／又は陽イオン電荷担体とを含み、更に、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、コレステロール、テトラエーテル脂質、セラミド、スフィゴ脂質及び／又はジアシルグルセロールからなる群より選ばれた中性脂質を含むことを特徴とする両性リポソーム。

**【請求項 6】**

等電点が5～7である、請求項5記載の両性リポソーム。

**【請求項 7】**

平均サイズが50～1000nmである、請求項1～6のいずれか1項に記載の両性リポソーム。

**【請求項 8】**

有効成分を含む、請求項1～7のいずれか1項に記載の両性リポソーム。

**【請求項 9】**

該有効成分が、タンパク質、ペプチド、DNA、RNA、アンチセンススクレオチド及び／又はデコイスクレオチドである、請求項8に記載の両性リポソーム。

**【請求項 10】**

有効成分の少なくとも80%が、該リポソームの内部にある、請求項1～9のいずれか1項に記載の両性リポソーム。

**【請求項 11】**

請求項1～10に記載の有効成分をリポソームに充填する方法であって、封入するために決められたpHが用いられ、結合していない物質を分離するために第二pHが用いられる特徴とする方法。

**【請求項 12】**

請求項1～10に記載の有効成分をリポソームに充填する方法であって、該リポソームが決められたpHで透過化処理され閉鎖されることを特徴とする方法。

**【請求項 13】**

ナノカプセルを製造するための請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームの使用。

**【請求項 14】**

診断における放出システムを製造するための請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームの使用。

**【請求項 15】**

有効成分を運搬及び／又は放出するための請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームの使用。

**【請求項 16】**

徐放性製剤及び／又は循環デポとしての請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームの使用。

**【請求項 17】**

静脈内に適用するための請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームの使用。

**【請求項 18】**

細胞の生体内又は生体外トランスフェクション用ベクターとしての請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームの使用。

**【請求項 19】**

細胞の試験管内トランスフェクション用ベクターとしての請求項1～10のいずれか1項に記載のリポソームの使用。

**【手続補正2】**

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0015】

弱陽イオン化合物の例は、His-Chol ヒスタミニル-コレステロールヘミスクシネート、Mo-Chol モルホリン-N-エチルアミノ-コレステロールヘキスクシネート又はヒスチジニル-PEである。

中性化合物の例は、コレステロール、セラミド、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、テトラエーテル脂質又はジアシルグリセロールである。

弱陰イオン化合物の例は、CHEMSコレステロールヘミスクシネート、炭素原子8～25個を有するアルキルカルボン酸又はヘミコハク酸ジアシルグリセロールである。追加の弱陰イオン化合物は、アスパラギン酸、又はグルタミン酸とPE又はPS又はそのアミドのグリシン、アラニン、グルタミン、アスパラギン、セリン、システイン、トレオニン、チロシン、グルタミン酸、アスパラギン酸又は他のアミノ酸又はアミノジカルボン酸によるアミドである。同じ原理に従って、ヒドロキシカルボン酸又はヒドロキシジカルボン酸とPSのエステルも弱陰イオン化合物である。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0018

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0018】

本発明は、また、等電点が4～8の間にある少なくとも1種の両性電荷担体を含む両性リポソームに関する。

好適態様においては、リポソームの両性電荷担体の等電点は5～7の間にある。

本発明は、また、少なくとも1種の両性電荷担体と陰イオン及び/又は陽イオン電荷担体とを含む、両性リポソームに関する。

好適態様においては、両性リポソームの等電点は5～7である。

本発明の特別の態様においては、本発明のリポソームは、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ジアシルグリセロール、コレステロール、テトラエーテル脂質、セラミド、スフィンゴ脂質、及び/又はジアシルグリセロールを組んでいる。しかしながら、リポソームの調製は、本発明の教示の多くの脂質を組合させて行うことができることは当然のことである。例えば、リポソームは多量のCHEMS(約40%)と少量のDOTAP(約30%)を用いて合成することができる。CHEMSのカルボキシル基のpKにおけるこの成分の負電荷はこれまですでに抑えられ、正電荷担体が全体を支配している。代替的製剤は、CHEMSとHis-Cholとの混合であり、正電荷担体His-Cholの強い荷電が負のCHEMSの放電と相乗作用的に進む。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0019】

それ自体では両性であるHist-Cholが、例えば、ホスファチジルコリンの中性膜内に組込まれる場合には、Hist-Cholにおおむね相当する等電点をもつ両性リポソームが結果として生じる。

本発明の教示の多数の態様によって下記の重要なパラメータがどのように適合し得るかは当業者に既知である。

(i) 用いられる電荷担体の量やpKa値による電荷逆反応の終点におけるリポソームの電

荷密度、

- ( ii ) 絶対量や 2 種の相補的 pH 感受性脂質の最適相乗作用による、 2 種の電荷担体比からの電荷逆反応曲線の勾配、
- ( iii ) 2 種の電荷担体の比又は 1 つ又は複数の pK 値の位置に基づくゼータ電位のゼロ通過。